PlasPure™ 质粒小量制备试剂盒

操作说明

Version：HBRG-PPMINI-001

产品信息

产品名称	PlasPure™ 质粒小量制备试剂盒
货号	HB-PPMINI-200
存储及运输条件	室温或置于 2~8°C储存，常温运输
规格	200T
有效期	溶液部分 18 个月

产品组成

组成	HB-PPMINI-200
Plasmid Recovery Column	200 个
2 mL Collection Tube	200 个
Buffer CBS	50 mL
Solution I	50 mL
Solution II	60 mL
Solution III	85 mL
Wash Solution*	24+24 mL
Elution Buffer	25 mL

RNase A (10 mg/mL)	500μL

实验前小贴士

1、第一次使用产品前，请仔细阅读该说明书。

2、确认 Solution I 中已经加入 RNase A，并做好标记。独立包装的 RNase A 收货后请于-20°C 保存；初次使用本试剂盒时，请将 RNase A 全部加入 Solution I 中，均匀混合后，4°C保存，标明日期，如长时间不用，请于-20°C冻存。

3、Wash solution 分两瓶，大瓶用于配制工作液（已预装 24ml 母液），小瓶为母液，当大瓶工作液用完时，可从小瓶中取 24ml 用于配制工作液。

4、实验前检查 Washing Solution 是否按照要求加入乙醇，使用后及时盖紧瓶盖，防止乙醇挥发。

5、Solution II、Solution III可室温保存。实验前 4°C预冷 Solution III可达到更好的实验效果。

6、室温较低时，请检测 Solution II 中是否有沉淀。若有沉淀，37°C保温溶解，待恢复到室温后使用。

7、准备好过夜培养且状态良好的菌液。

8、Buffer CBS 用于质粒提取前柱子的平衡处理，可以活化硅胶膜，有利于提高质粒的产量。

9、试剂盒其余组分于室温（15°C~25°C）可稳定存放 1.5 年而使用活性无明显衰减。室温过高或需要更长期保存，请放置于 2~8°C。

产品简介

本试剂盒所提取的质粒 DNA 可用于多种常规实验，包括酶切、测序、转化等。

本试剂盒采用常规碱裂解法分离质粒 DNA，并结合膜吸附技术特异性吸附质粒 DNA，具有高效、快速、方便的特点。

使用方法

1. DNA 吸附柱平衡处理：向 Plasmid Recovery Column 中加入 200μl buffer CBS，12,000rpm 离心 1min，倒掉收集管中的废液，将 Plasmid Recovery Column 重新放回到收集管中备用。

注意：请使用当天处理过的 Plasmid Recovery Column。

2. 根据菌液生长情况，取 2～4ml 2YT 或 LB 培养基过夜培养的菌液， 8,000rpm 离心 1min，弃尽上清。

注意：4~6ml 菌液分 2 到 3 次离心到一个 2ml 离心管中。 对于较低拷贝数的质粒，请用

4-6ml 菌液，并加倍 Solution I, II 和 III 的用量，或分几个离心管中处理，最后通过多次离心将上清液收集到同一个吸附柱中。

3. 加入 250μl Solution I，用枪头或振荡器充分悬浮细菌。

注意：不要残留细小菌块，否则会影响裂解，导致提取质粒量低和质量下降。检查 SolutionI 中是否已加入 RNaseA。

4. 加入 250μl Solution II，立即温和并充分地上下翻转混合 6-8 次，使菌体充分裂解，直至形成透亮的蛋清状溶液，此步骤不宜超过 5min。 如果未能变得清亮，可能菌体过多，裂解不彻底，应减少菌液量。

5. 加入 350μl Solution III，温和并充分地上下翻转混合 8～10 次，室温放置 2～5min。然后 12,000rpm 离心 5-10min。

6. 将步骤 5 中的上清转移到 Plasmid Recovery Column 中（吸附柱放于收集管中），注意不要吸到沉淀。12,000rpm 离心 1min，取出 Plasmid Recovery Column，倒掉收集管中废液。

7. 将吸附柱重新放回收集管中，加入 500μl Wash Solution，12,000rpm 离心 1min，倒掉收集管中废液。

8. 重复步骤 7 一次。

9. 倒掉收集管中废液，12,000 rpm 离心 2min，彻底去除 Wash Solution（此步骤不可省略）。然后开盖室温放置数分钟，以彻底晾干吸附柱中残留的漂洗液。

10. 将 Plasmid Recovery Column 放入干净的 1.5ml 离心管中，在 Plasmid Recovery Column 膜中央加入 50～100μl Elution Buffer，37°C放置 2 min。12,000rpm 离心 1-2min，离心管中的液体即为包含目的质粒的溶液。

注意：洗脱体积比较关键，不能少于 50ul，过小的洗脱体积不能充分浸润吸附膜，会严重影响 DNA 回收率。

11. 取 1～3μl（视质粒浓度定）进行琼脂糖凝胶电泳检测，纯化好的 DNA 可立即用于后续实验或-20°C冻存。